

L'ADN tumoral circulant dans l'étude CRICKET, un biomarqueur à connaître

Circulating tumor DNA in the CRICKET study, a biomarker to know

David Sefrioui

CHU Charles Nicolle, Normandie Univ., UNIROUEN, Inserm 1245, IRON group, unité d'oncologie digestive, service hépato-gastro-entérologie, 1 rue de Germont, 76031 Rouen Cedex

@ Correspondance : D. Sefrioui
David.Sefrioui@chu-rouen.fr

Référence

Cremolini C, Rossini D, Dell'Aquila E, et al. Rechallenge for Patients With RAS and BRAF Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer With Acquired Resistance to First-line Cetuximab and Irinotecan : A Phase 2 Single-Arm Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2018 Nov 21. doi : 10.1001/jamaoncol.2018.5080.

Introduction

La stratégie classique de traitement des patients en situation métastatique est de modifier le traitement lorsque l'évaluation objective une progression néoplasique. La réutilisation d'une même molécule ou d'une même classe thérapeutique peut s'inscrire dans cinq situations qui correspondent schématiquement (*figure 1*) [1] à : i) un rechallenge, ii) une réintroduction, iii) un changement intraclasse ou traitement séquentiel, iv) une optimisation de dose, v) une poursuite avec ajout d'une nouvelle molécule.

La situation du rechallenge consiste à réutiliser après un intervalle de temps donné un schéma antérieurement utilisé (même molécule, même dosage) auquel la tumeur était initialement sensible puis a développé une résistance. Il existait jusqu'à présent peu de documentation scientifique permettant de rationaliser ce concept.

Les thérapies ciblées anti-EGFR représentent une classe thérapeutique majeure dans le traitement des cancers colorectaux métastatiques (CCRM). Une abondante littérature a été publiée sur les mécanismes de résistance et d'efficacité régissant cette classe thérapeutique [2, 3]. En particulier, la présence d'une mutation somatique RAS (gènes KRAS ou NRAS) à l'initiation du traitement est le mécanisme le mieux documenté de résistance primaire aux anti-EGFR [4-6]. Le rôle pivot des mutations RAS dans la résistance aux anti-EGFR a ensuite été renforcé par les résultats de plusieurs études indiquant que l'acquisition de mutations RAS en cours de traitement constituait le principal mécanisme de résistance secondaire aux anti-EGFR [7-9].

Les mutations RAS jouent un rôle pivot dans la résistance aux anti-EGFR

L'émergence de ces mutations en cours de traitement peut résulter, soit de l'acquisition tardive de mutations au sein d'une sous-population clonale, soit de la sélection par le traitement d'un clone minoritaire résistant initialement indétectable au niveau du tissu tumoral. L'identification de ces mutations acquises de RAS a pu être réalisée par le développement d'un nouvel outil diagnostique, la biopsie liquide. Cette dernière possède l'avantage sur son pendant tissulaire de permettre l'identification d'éléments issus de la tumeur (CTC, ARN, ADN) par un prélèvement non invasif de fluides biologiques (salive, sang, urines) [10, 11]. La première démonstration d'efficacité d'un rechallenge par anti-EGFR a été apportée par une étude de phase II publiée en 2012 [12]. Ce travail incluait les patients en situation de progression après un schéma de première ligne comprenant une association d'irinotécan et cétuximab et ayant eu au moins une nouvelle ligne de chimiothérapie dans l'intervalle du rechallenge par irinotécan et cétuximab. Une réponse objective (RO) était

Pour citer cet article : Sefrioui D. L'ADN tumoral circulant dans l'étude CRICKET, un biomarqueur à connaître. *Hépatogastro et Oncologie Digestive* 2019 ; 26 : 711-716. doi : 10.1684/hpg.2019.1812

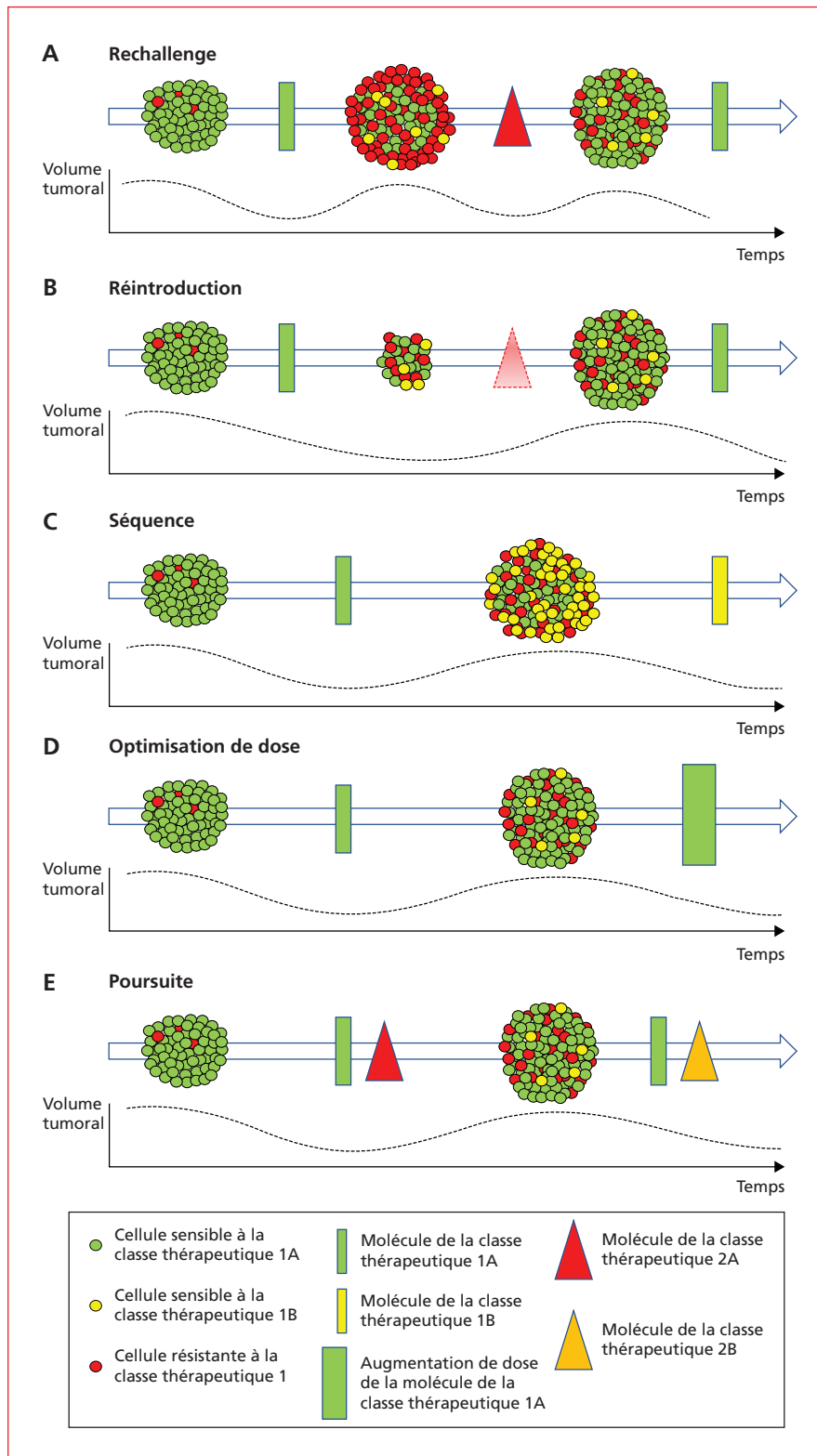


Figure 1 • Stratégie de retraitement dans le cancer colorectal métastatique. A) Rechallenge (réutilisation après un intervalle de temps donné d'un schéma antérieurement utilisé (même molécule, même dosage) auquel la tumeur était initialement sensible puis a développé une résistance. B) Réintroduction (réutilisation après un intervalle de temps donné d'un schéma antérieurement utilisé (même molécule, même dosage) auquel la tumeur était initialement sensible sans documentation prouvée de résistance. C) Séquence (changement de molécule au sein de la même classe thérapeutique). D) Optimisation de dose (poursuite de la même molécule avec augmentation de dose). E) Poursuite (poursuite de la même molécule avec le même dosage et ajout d'une nouvelle molécule en association). Adapté d'après Mauri *et al.* [1].

observée pour 53,8 % des patients, une stabilité pour 35,9 % et la médiane de survie sans progression (SSP) était de 6,6 mois chez des patients avec un nombre médian de lignes antérieurs à 4 et un délai médian de 6 mois entre L1 et le rechallenge. Plusieurs travaux récents portant sur quelques séries de cas suggèrent que *l'efficacité du rechallenge aux anti-EGFR pourrait être le fait lors de la levée d'inhibition de la voie EGFR d'une disparition des clones mutés de résistance* initialement apparue sous cette même ligne de traitement [13, 14]. L'objectif de l'étude CRICKET était d'évaluer l'efficacité d'un rechallenge par l'association irinotécan/cétuximab en troisième ligne chez les patients suivis pour cancer colorectal métastatique (CCRM) en réponse initiale après un schéma de première ligne utilisant la même association de traitement puis une progression après un délai d'au moins six mois de contrôle néoplasique. L'étude évaluait également la corrélation entre les données d'efficacité et les résultats de la biopsie liquide réalisée à l'initiation de ce rechallenge.

/// L'efficacité du rechallenge aux anti-EGFR pourrait être le fait d'une disparition des clones mutés de résistance ///

Le schéma de l'étude

Il s'agit d'une étude de phase II, ouverte, monobras et multicentrique, réalisée au sein de neuf centres italiens. Les critères d'inclusion correspondaient à un âge ≥ 18 ans, un adénocarcinome colorectal métastatique confirmé histologiquement, un stade OMS ≤ 2 , un statut *RAS* et *BRAF wild-type* au diagnostic initial, la présence d'une cible mesurable selon les critères RECIST 1.1. Les traitements antérieurs devaient correspondre à l'association FOLFIRI ou FOLFOXIRI et cetuximab pour le schéma de première ligne (L1) et l'association FOLFOX, FOLFOXIRI ou XELOX et bévacizumab pour le schéma de deuxième ligne (L2). Les dernières conditions d'éligibilité requises correspondaient à la présence d'une RO à L1, une SSP d'au moins 6 mois à L1, un délai minimum ≥ 4 mois entre la fin de L1 et le début de L3 (rechallenge), une progression documentée à l'issue de L1 et L2. Le traitement de l'étude correspondait à l'association cetuximab 500 mg/m² et irinotécan 180 mg/m² toutes les deux semaines. Le traitement était poursuivi jusqu'à progression néoplasique, toxicité inacceptable, opposition du patient ou retrait du consentement. La réponse tumorale était évaluée toutes les huit semaines par un examen tomodensitométrique selon les critères RECIST 1.1. L'objectif principal de l'étude était le taux de patients avec RO défini comme le taux de patients avec réponse partielle (RP) ou complète (RC). Les objectifs secondaires étaient la survie sans progression (SSP), la survie globale (SG), la tolérance du traitement et la corrélation entre les données d'efficacité (taux de RO, SSP et SG) et la détection d'ADN tumoral circulant (ADNtc). Un total de

27 patients au moins était requis après calcul de l'effectif et au moins quatre patients devaient présenter une RO pour définir l'étude comme positive. Un prélèvement de sang (6 mL (tube EDTA)) pour biopsie liquide était systématiquement réalisé à l'inclusion dans l'étude juste avant le rechallenge. L'ADNtc était analysé par PCR digitale (Biorad) et séquençage à haut débits ou *Next-Generation Sequencing* (NGS) (Ion Torrent S5 XL

TABLEAU 1 • Caractéristiques des patients à l'inclusion.

Caractéristiques	Population de l'étude (N = 28)
Âge (années), médiane (extrêmes)	69 (45-79)
Sexe :	
Homme	19 (68 %)
Femme	9 (32 %)
Stade OMS* :	
0	18 (64 %)
1-2	10 (36 %)
Métastases synchrones :	
Oui	20 (71 %)
Non	6 (29 %)
Chimiothérapie adjuvante antérieure :	
Oui	6 (29 %)
Non	20 (71 %)
Site tumeur primitive :	
Côlon droit	9 (32 %)
Côlon gauche	13 (47 %)
Rectum	6 (21 %)
Nombre de sites métastatiques :	
1	7 (25 %)
> 1	21 (75 %)
Site métastatique uniquement hépatique :	
Oui	5 (18 %)
Non	23 (82 %)
Résection tumeur primitive :	
Oui	25 (89 %)
Non	3 (11 %)
Type histologique mucineux :	
Oui	1 (4 %)
Non	27 (96 %)
Temps depuis le diagnostic de métastase(s) :	
< 18 mois	5 (18 %)
≥ 18 mois	23 (82 %)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

(Thermo Fisher Scientific). Les cibles mutationnelles utilisées pour l'analyse d'ADNtc correspondaient aux mutations des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* pour la PCR digitale tandis que le panel *Ion AmpliSeq Cancer Hotspot* était utilisé pour l'analyse par NGS (panel de 50 gènes fréquemment impliqués dans la carcinogenèse dont les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*).

Les résultats

Un total de 28 patients a été inclus entre le 7 janvier 2015 et le 19 juin 2017. Les caractéristiques des patients sont indiquées en [tableau 1](#). Le temps médian entre le

diagnostic de maladie métastatique et l'inclusion était de 24,4 mois (IC 95 %, 20,2-31,7 mois). Le suivi médian lors de l'analyse (1^{er} mars 2018) était de 15,4 mois.

Efficacité et tolérance sur la population de l'étude

Les taux de RO et de contrôle néoplasique étaient de 21 % et 54 %, respectivement. Une progression était observée chez 36 % des patients tandis que le résultat de l'évaluation n'était pas disponible chez 10 % ([figure 2A](#)). Les médianes de SSP et de SG étaient de 3,4 mois (IC 95 %, 1,9-3,8 mois) et 9,8 mois (IC 95 %, 5,2-13,1 mois),

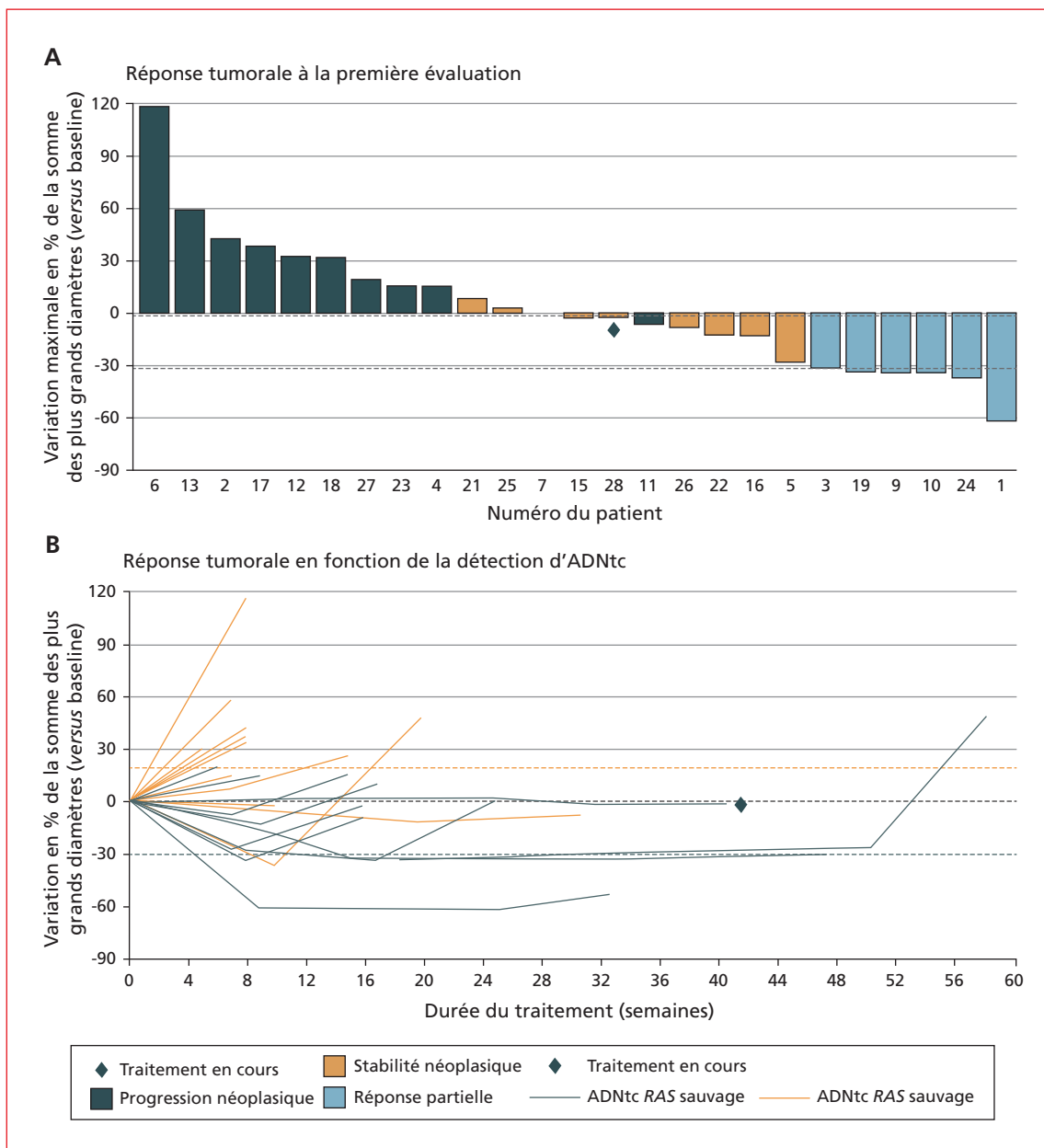


Figure 2 • Données de la réponse tumorale au rechallenge anti-EGFR. A) Données de réponse tumorale lors de la première évaluation scannographique. B) Données de réponse tumorale au cours du temps en fonction de la détection d'ADN tumoral circulant lors du rechallenge.

respectivement. Les EI de grade ≥ 3 les plus fréquemment documentés ($\geq 5\%$) étaient la diarrhée (18 %), la toxicité cutanée (14 %), la neutropénie (14 %) et le syndrome main-pied (7 %). Aucune interruption ni retrait de traitement en lien avec les EI n'était nécessaire pour l'ensemble des patients de l'étude.

Efficacité selon les résultats de la biopsie liquide

Une mutation *RAS* circulante était détectée à l'inclusion chez 48 % (12/25) des patients (*KRAS* : G12D (n = 6), G12V (n = 5 dont 1 patient présentant également une mutation Q61H) et *NRAS* : Q61L (n = 1)). Aucune mutation *BRAF* ou *PIK3CA* n'était identifiée. L'ADNtc était positif chez 57 % des patients non répondeurs alors que l'ADNtc était négatif chez 100 % des patients avec RO confirmée (p = 0,1). La variation en pourcentage de la somme des lésions cibles en fonction de la présence d'ADNtc lors du rechallenge est représentée en *figure 2B*. Une amélioration significative de la survie sans progression (SSP) était présente chez les patients avec ADNtc négatif (médiane SSP = 4 vs. 1,9 mois (HR 0,44 [IC 95 % (0,18-0,98)], p = 0,03) (*figure 3A*). Une tendance non significative vers une amélioration de la SG était également observée pour les patients avec ADNtc négatif (médiane SG = 12,5 vs. 5,2 mois (HR 0,58 [IC 95 % (0,22-1,52)], p = 0,24) (*figure 3B*).

Discussion

L'étude CRICKET est positive et montre avec succès l'intérêt d'un rechallenge aux anti-EGFR dans le sous-groupe bien défini des patients avec CCRm *RAS* wild-type

initialement répondeurs et développant secondairement une résistance aux anti-EGFR. Cette étude met en lumière la valeur prédictive de l'ADNtc pour guider le choix de cette stratégie thérapeutique et apporte un signal d'efficacité en faveur des patients sans mutation *RAS* circulante lors de ce rechallenge. Découvert il y a plus de 70 ans, l'ADNtc est un biomarqueur qui connaît un regain d'intérêt ces dix dernières années en partie dû à l'amélioration des progrès technologiques nécessaires à sa détection. Il s'agit d'un biomarqueur candidat idéal qui peut s'intégrer à chaque étape du parcours de soins en oncologie et de nombreux travaux ont montré son intérêt dans le dépistage, l'utilisation à visée diagnostique ou pronostique, le suivi de la maladie résiduelle ou la détection de mutation de résistance apparue en cours de traitement [10, 11].

/// L'ADNtc est un biomarqueur candidat idéal qui peut s'intégrer à chaque étape du parcours de soins en oncologie ///

Actuellement, l'ADNtc n'est pas encore utilisé en routine du fait de l'absence d'études interventionnelles positionnant ce biomarqueur comme élément décisionnel de la stratégie thérapeutique (une des limites de l'étude CRICKET). Les autres points faibles de l'étude CRICKET concernent son design (étude de phase II ouverte, non contrôlée) et le faible effectif des patients inclus. Ainsi, si cette étude apporte une preuve de concept prometteuse, elle ne remet cependant pas en cause les résultats d'études de phase III validant l'efficacité des traitements oraux représentés par le régorafénib et l'association

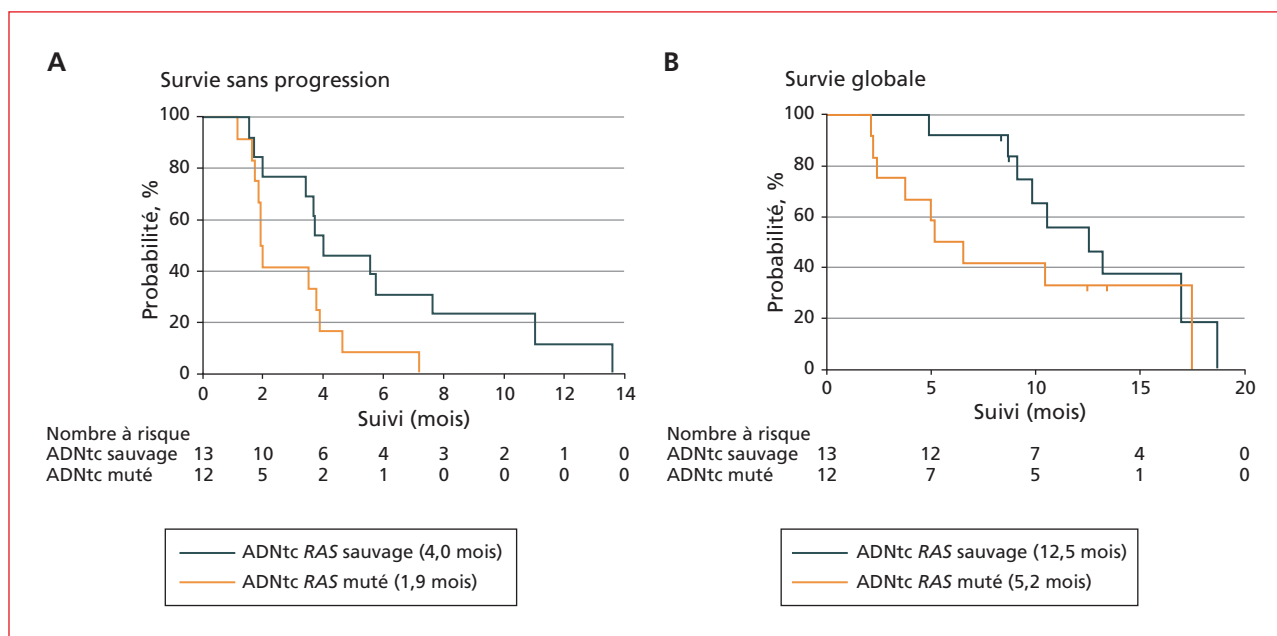


Figure 3 • Données de survie (A : survie sans progression, B : survie globale) en fonction de la présence d'ADN tumoral circulant (ADNtc) lors du rechallenge.

trifuridine/tipiracil pour cette même typologie de patients (patients suivis pour CCRm en troisième ligne après échec des traitements conventionnels (5-FU, oxaliplatine, irinotécan, antiangiogéniques ± antiEGFR en cas de tumeur initialement RAS wild-type)) [15-18]. Cependant, il faut souligner que le taux de RO observé avec ces molécules reste faible (< 10), que moins d'un patient sur deux en bénéficie et qu'aucun biomarqueur ne permet actuellement d'affiner le choix pour l'une ou l'autre de ces deux thérapies orales (laissé ainsi à l'appréciation du clinicien). En parallèle, il faut rappeler que d'autres études de phase I-II ont également été publiées et affichent des résultats tout aussi prometteurs dès lors que les patients sont sélectionnés sur la base d'une altération moléculaire ciblée. Ces nouvelles approches thérapeutiques du CCRm réfractaire intéressent le ciblage de la voie HER2 (double inhibition du récepteur HER2 par trastuzumab et pertuzumab ou lapatinib) [19, 20], l'instabilité microsatellitaire (immunothérapie anti-PD-1 ± anti-CTLA-4) [21, 22] ou la présence de gènes de fusion (inhibition des translocations *TPM3-NTRK1* par un inhibiteur de tyrosine kinase, l'entrectinib) [23, 24] mais ne concernent qu'une minorité de patients (amplification de *HER2*, instabilité microsatellitaire et translocation *TPM3-NTRK1* présent dans 5 %, 5 % et 1 % des CCRm).

Conclusion

L'étude CRICKET confirme prospectivement la stratégie de rechallenge aux anti-EGFR et l'intérêt de l'ADNtc comme outil décisionnel pour un sous-groupe de patients bien défini sur le plan clinique et moléculaire. La place grandissante de la biopsie liquide (et des biomarqueurs de façon plus générale) dans la sélection et le suivi des patients sous traitement laisse à penser que les stratégies de traitement du CCRm vont être optimisées et tendre à se complexifier dans les années à venir.

Les stratégies de traitement du CCRm vont être optimisées et tendre à se complexifier dans les années à venir

Liens d'intérêts :

l'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec l'article.

Références

1 • Mauri G, Pizzutilo EG, Amatu A, et al. Retreatment with anti-EGFR monoclonal antibodies in metastatic colorectal cancer: Systematic review of different strategies. *Cancer Treat Rev* 2019 ; 73 : 41-53.
2 • Di Fiore F, Sesboué R, Michel P, Sabourin JC, Frebourg T. Molecular determinants of anti-EGFR sensitivity and resistance in metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2010 ; 103(12) : 1765-72.

3 • Misale S, Di Nicolantonio F, Sartore-Bianchi A, Siena S, Bardelli A. Resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer : from heterogeneity to convergent evolution. *Cancer Discov* 2014 ; 4(11) : 1269-80.
4 • Lièvre A, Bachet J-B, Le Corre D, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006 ; 66(8) : 3992-5.
5 • Di Fiore F, Blanchard F, Charbonnier F, et al. Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by Cetuximab plus chemotherapy. *Br J Cancer* 2007 ; 96(8) : 1166-9.
6 • Benvenuti S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, et al. Oncogenic activation of the RAS/RAF signaling pathway impairs the response of metastatic colorectal cancers to anti-epidermal growth factor receptor antibody therapies. *Cancer Res* 2007 ; 67(6) : 2643-8.
7 • Diaz Jr LA, Williams RT, Wu J, et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature* 2012 ; 486(7404) : 537-40.
8 • Misale S, Yaeger R, Hobor S, et al. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature* 2012 ; 486(7404) : 532-6.
9 • Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med* 2014 ; 6(224) : 224ra24.
10 • Corcoran RB, Chabner BA. Application of Cell-free DNA Analysis to Cancer Treatment. *N Engl J Med* 2018 ; 379(18) : 1754-65.
11 • Pantel K, Alix-Panabières C. Liquid biopsy and minimal residual disease - latest advances and implications for cure. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019 Feb 22. doi : 10.1038/s41571-019-r0187-3.
12 • Santini D, Vincenzi B, Addeo R, et al. Cetuximab rechallenge in metastatic colorectal cancer patients: How to come away from acquired resistance? *Ann Oncol* 2012 ; 23(9) : 2313-8.
13 • Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med* 2015 ; 21(7) : 795-801.
14 • Van Emburgh BO, Arena S, Siravegna G, et al. Acquired RAS or EGFR mutations and duration of response to EGFR blockade in colorectal cancer. *Nat Commun* 2016 ; 7 : 13665.
15 • Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT) : an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2013 ; 381(9863) : 303-12.
16 • Li J, Qin S, Xu R, et al. Regorafenib plus best supportive care versus placebo plus best supportive care in Asian patients with previously treated metastatic colorectal cancer (CONCUR) : A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015 ; 16(6) : 619-29.
17 • Mayer RJ, Van Cutsem E, Falcone A, et al. Randomized trial of TAS-102 for refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2015 ; 372(20) : 1909-19.
18 • Xu J, Kim TW, Shen L, et al. Results of a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase III Trial of Trifluridine/Tipiracil (TAS-102) Monotherapy in Asian Patients With Previously Treated Metastatic Colorectal Cancer : The TERRA Study. *J Clin Oncol* 2018 ; 36(4) : 350-8.
19 • Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, et al. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES) : A proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016 ; 17(6) : 738-46.
20 • Meric-Bernstam F, Hurwitz H, Raghav KPS, et al. Pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer (MyPathway) : An updated report from a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study. *Lancet Oncol* 2019 ; 20(4) : 518-30.
21 • Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 2017 ; 357(6349) : 409-13.
22 • Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, et al. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 2018 ; 36(8) : 773-9.
23 • Ardini E, Bosotti R, Borgia AL, et al. The TPM3-NTRK1 rearrangement is a recurring event in colorectal carcinoma and is associated with tumor sensitivity to TRKA kinase inhibition. *Mol Oncol* 2014 ; 8(8) : 1495-507.
24 • Sartore-Bianchi A, Ardini E, Bosotti R, et al. Sensitivity to Entrectinib Associated With a Novel LMNA-NTRK1 Gene Fusion in Metastatic Colorectal Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2016 ; 108(1).